

München, 1960

Enzymatische und histologische
Veränderungen in der Rattenniere nach
Tetrachlorkohlenstoffvergiftung

von

DAGMAR LOHMEYER

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

ENZYMATISCHE UND HISTOLOGISCHE
VERÄNDERUNGEN IN DER RATTENNIERE NACH
TETRACHLORKOHLENSTOFFVERGIFTUNG

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilian - Universität zu München

vorgelegt von
Dagmar Lohmeyer
aus München

München 1960

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. H. Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung: 26.7.1960

Dem Andenken meines Vaters
Meiner Mutter in Dankbarkeit



Inhaltsverzeichnis.

	Seite
A. Einleitung	4
B. Methodik	9
I. Biochemische Untersuchungen in der Warburg-Apparatur	10
II. Histologische Untersuchungen	15
C. Versuchsergebnisse	17
I. Bestimmung der Aktivität der Succino- Oxydase in der Warburg'schen Apparatur nach einmaliger intraperitonealer Tetra- chlorkohlenstoffvergiftung	17
II. Histologische Untersuchungen an Ratten- nieren nach einmaliger intraperitonealer Tetrachlorkohlenstoffvergiftung	27
D. Diskussion	31
E. Zusammenfassung	33
Abbildungen	34
Literatur	41
Lebenslauf	46



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554014_0041

E i n l e i t u n g .

Tetrachlorkohlenstoff ist ein klassisches Zellgift. In zahlreichen Tierversuchen wurde es verwandt, um die Zellschädigung zu studieren. Dabei wurde in erster Linie die Zellschädigung in der Leber untersucht. Das Gift wurde intraperitoneal, subcutan, per os, per inhalationem und intraarteriell, einmalig oder auch mehrmals, verabreicht. Wirkung und Verlauf solcher Vergiftung auf die Leberzelle wurden mehrfach histologisch untersucht, und es erschien schließlich wünschenswert, auch an Hand einer biochemischen Methode den Verlauf des Tetrachlorkohlenstoffschadens der Leber zu verfolgen. ZÖLLNER und Mitarbeiter unternahmen solche Untersuchungen und wählten dazu die Bestimmung der Aktivität des Succino-Oxydase-Systems. Sie wiesen in ihren Enzymversuchen nach, daß nach einmaliger intraperitonealer Tetrachlorkohlenstoffgabe sehr bald, nämlich schon nach 3-4 Stunden, eine deutliche Verminderung der Aktivität des Succinat oxydierenden Systems in der Rattenleber eintritt. Ein Maximum ist nach etwa zehn Stunden erreicht. Sie zeigten in der gleichen Arbeit, daß von der achten Stunde nach der Injektion an im histologischen Bild beginnende Veränderungen zu erkennen sind. Diese sind als typische Folge der Giftwirkung zu bezeichnen und schreiten mit der Dauer der Gifteinwirkung bis zu einem Bild ausgedehnter Nekrosen fort. Ebenso fanden ZÖLLNER und Mitarbeiter auch nach einmaliger subcutaner Injektion von Tetrachlorkohlenstoff, in Olivenöl gelöst, eine Hemmung in der Aktivität der Succinoxydase. (24, 25, 26).

Zahlreiche weitere Untersuchungen dieser Art liegen vor, in denen im Lebergewebe die toxische Wirkung auf oxydative Vorgänge im Organ nachgewiesen wird. (2, 15, 16, 22).

U.a. fand BECKER eine Aktivitätsminderung der Bernsteinsäuredehydrase in Leberhomogenaten nach einmaliger intraperitonealer Tetrachlorkohlenstoffgabe bei Meerschweinchen, Ratten und Mäusen. Der tiefste Wert lag bei der Ratte schon nach 4, bei der Maus nach 24 und beim Meerschweinchen nach

72 Stunden nach der Giftinjektion. Die verabreichten Dosen lagen bei BECKER wie auch bei ZÖLLNER und Mitarbeitern zwischen 0,07 g und 0,4 g/100 g Körpergewicht. (2) TSUBOI und STOWELL konnten ein Absinken der Fermentaktivität ebenfalls schon früh nach einmaliger Tetrachlorkohlenstoffgabe im Futter (40 %ig in Olivenöl gelöst) im Succinooxydase-System der Mäuseleber feststellen. (22) PATWARDHAN und Mitarbeiter vergifteten einmalig intraperitoneal (1,5 ml/kg) mit Tetrachlorkohlenstoff. Sie stellten in histochemischen Untersuchungen ebenfalls einen Rückgang der Aktivität der Bernsteinsäuredehydrogenase und der Transaminase in der Rattenleber fest. (16)

ADAMS und Mitarbeiter untersuchten an Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Affen nach einmaligen und wiederholten Inhalationen von Tetrachlorkohlenstoff die Wirkung des Giftes auf die einzelnen Organe. Sie fanden bei histologischen Kontrollen aller Organe deutliche Schäden in der Leber, dagegen keinerlei Schädigungen in anderen Organen, auch nicht in den Nieren. (1)

Alle genannten Autoren weisen darauf hin, daß bei einmaliger Vergiftung die Fermentaktivität der Leberzellen schon früh gestört ist, aber nach etwa fünf Tagen eine Normalisierung festzustellen war.

Aus der Klinik ist bekannt, daß bei Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff, die beim Menschen im Allgemeinen durch Trinken oder Inhalieren des Giftes zustande kommt, nicht nur die Leber, sondern auch andere Organe stark betroffen werden. In den meisten Fällen enden diese Vergiftungen beim Menschen nach wenigen Tagen unter dem Bilde einer schweren hepatorenenalen Schädigung tödlich. (13)

DENNIG spricht von einem Hand-in-Hand-Gehen der Vergiftungserscheinungen an den Nieren mit der Leberschädigung. Man findet bei Sektionen neben schweren Leberschäden Degeneration und Nekrosen des Nierenparenchyms. Niereninsuffizienz, Oligurie oder Anurie werden beschrieben. Es wird sogar darauf

hingewiesen, bei akuter, unklarer Niereninsuffizienz stets an eine Tetrachlorkohlenstoffvergiftung zu denken. (6)
 In einer neueren kasuistischen Mitteilung wird die besondere Affinität des Tetrachlorkohlenstoffs zu den Nieren erneut hervorgehoben. (23) Experimentelle Untersuchungen über die Schädigung in den Nieren nach Tetrachlorkohlenstoffvergiftung sind jedoch relativ selten.

JENNINGS und KEARNS haben in einer ausführlichen Arbeit die histologischen Veränderungen an Rattennieren nach intra-peritonealer und subcutaner Tetrachlorkohlenstoffapplikation verschiedener Dosierung untersucht. Auf Grund ihrer Ergebnisse, auf die wir später noch eingehen werden, kamen die Autoren zu dem Schluß, daß diese experimentellen Nierenschädigungen der "lower nephron nephrosis" des Menschen nicht entsprechen. Sie fanden vielmehr Koagulationsnekrosen in den proximalen Tubuli der äußersten Rindenbezirke. Die distalen Tubuli und die Sammelröhren zeigten dagegen niemals Nekrosen und auch das Mark blieb stets unverändert. (12)

Ebenso fanden GYÖRGY, SEIFTER, TOMARELLI und GOLDBLATT nekrotisierende Rindennephrosen bei Ratten, die während chronischer Inhalation von Tetrachlorkohlenstoff (300 ppm, tgl. 7 Std., 5 Tage der Woche) zugrunde gegangen waren. (10)
 OLIVER beschreibt nach zwei aufeinander folgenden Dosen von 4 ml Tetrachlorkohlenstoff, subcutan injiziert, Nekrosen der proximalen Tubuluszellen in Kaninchennieren, die denen der intraperitoneal vergifteten Ratten entsprechen. (14)
 GARDNER und Mitarbeiter vergifteten Hunde mit Tetrachlorkohlenstoff per os, intravenös, rectal und intraperitoneal. Sie konnten keine Veränderungen an den Nieren von Hunden feststellen. (9) Dagegen konnten von CHANDLER und CHOPRA häufig Nekrosen der proximalen Tubuli und ausgedehnte Degeneration des Nierenparenchyms nach oralen Tetrachlorkohlenstoffgaben bei Katzen beschrieben werden. (5)

Bemerkenswert sind noch Experimente von JENNINGS und KEARNS, OPIE, ESCHENBRENNER und MILLER, bei denen zusätzlich die Veränderungen nach Vergiftung mit Chloroform untersucht

wurden. Sie fanden übereinstimmend an den Nieren im wesentlichen die gleichen Veränderungen, nämlich proximale Tubulusnekrosen. (12, 15, 8).

SACHS und DULSKAS stellten histochemische Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Gifte auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase in den Nieren von Ratten und Katzen an. Obwohl in allen Fällen mikroskopische Veränderungen festzustellen waren, fanden sie bei kurzer Einwirkungszeit keine nachweisbare Aktivitätsminderung. Erst nach längerem Überleben, also wohl als Folge der sich entwickelnden Nephrose, konnte eine Aktivitätsminderung beobachtet werden. (19). Sinngemäß gleiche Ergebnisse erbrachten die Experimente von BECKER und RIEKEN. Diese Autoren untersuchten die Wirkung der Fermentgifte Kaliumcyanid und Kaliummalonat auf die Zellatmung der Nieren von Kaninchen. Sie fanden, daß die Veränderung im histologischen Bild früher als durch Veränderung der Fermentaktivität zu erfassen ist. (3).

In die gleiche Rubrik gehören noch Arbeiten von DOERR und BECKER sowie RANDERATH und LUTZ, die nach Verabreichung fermenthemmender Substanzen histologische Veränderungen in den Nieren der untersuchten Tiere gefunden haben. (7, 18).

Aus all dem Gesagten geht hervor, daß in der Niere nach Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff histologische Veränderungen festzustellen sind. Fermentchemische Untersuchungen über die Tetrachlorkohlenstoffvergiftung der Nieren sind uns dagegen nicht bekannt. Wir wissen nur, daß nach Verabreichung von anderen fermenthemmenden Substanzen in der Niere die histologische Veränderung der biochemisch bzw. histochemisch faßbaren Veränderung vorausgeht. Da nach der Arbeit von ZÖLLNER und RAISICH in der Leber die Reihenfolge der Veränderungen umgekehrt ist, nämlich die biochemischen Veränderungen vor den histologischen faßbar sind, sollte durch unsere Experimente geklärt werden, ob bei der Wahl der gleichen Methode (d.h. des gleichen Fermentsystems) diese Diskrepanz zwischen Leber und Niere

ebenfalls besteht. (25).

ZÖLLNER und Mitarbeiter haben die Bestimmung der Aktivität der Succino-Oxydase bzw. Succinodehydrase benutzt. (24, 25, 26). In der vorliegenden Arbeit wollten wir prüfen, ob bei gleicher Vergiftung, die bei der Leber im Succinat-oxydierenden-System und im histologischen Bild Veränderungen hervorruft, auch Schädigungen in der Niere nachzuweisen sind. Dabei war es von besonderem Interesse festzustellen, ob:

1. fermentchemische und histologische Veränderungen in der Nierenzelle parallel laufen oder ob Diskrepanzen bestehen;
2. sich Unterschiede im Zeitpunkt des Auftretens der Schädigungen zeigen;
3. sich die Veränderungen qualitativ, d.h. in der Intensität des Schadens auswirken, falls der Zeitpunkt des Auftretens in fermentchemischen und histologischen Untersuchungen gleich ist.

M e t h o d i k .

Es wurden insgesamt die Nieren von 260 Ratten untersucht, teils in biochemischen, teils in histologischen Versuchen. Wir verwandten für unsere Versuche nur männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Körpergewicht von meist 90 - 120 g. Die Tiere wurden mit Tetrachlorkohlenstoff vergiftet. Das Gift wurde einmalig intraperitoneal oder subcutan in Dosen von 0,04 bis 0,5 ml/100 g Körpergewicht verabreicht. 8 - 12 Stunden vor der Tetrachlorkohlenstoffinjektion wurde den Tieren das Futter, jedoch nicht das Wasser entzogen. Die Tiere wurden zum Spritzen jeweils von einer Hilfsperson mit dem Kopf nach unten gehalten, um ein Verletzen der Därme möglichst zu vermeiden. Die intraperitoneale Injektion des unverdünnten Tetrachlorkohlenstoffs (spez.Gew. 1,59) erfolgte mittels einer Tuberkulinspritze. Die Futterkarenz wurde nach der Injektion fortgesetzt und erst 24 Stunden später wurde wieder mit der Fütterung begonnen. Die ersten 20 Tiere erhielten noch kein standardisiertes Futter, dann gingen wir dazu über, mit Körnern zu füttern.

Betrug die injizierte Giftmenge mehr als 0,08 ml/100 g Ratte, so waren die Tiere unmittelbar nach der Injektion benommen oder stark erregt. Diese schockartigen Zustände wurden durch sehr langsames Spritzen gemildert, jedoch nicht restlos vermieden. Die stärker vergifteten Tiere, ab 0,24 ml/100 g), gerieten meist schon wenige Minuten nach der Injektion in einen Zustand allgemeiner Apathie oder Lethargie, der bis zur Tötung anhielt.

Die Kontrolltiere wurden mit physiologischer Kochsalzlösung ebenfalls intraperitoneal gespritzt und deren Organe als Vergleichsmaterial benützt. Die bei den vergifteten Ratten beobachteten schockartigen Zustände postinjektionem sahen wir bei diesen unvergifteten Tieren,

mit einer Ausnahme, nie.

Nach 30 Minuten bis 9 Tagen nach der Vergiftung wurden die Ratten durch Dekapitation getötet und die Versuche durchgeführt.

I.

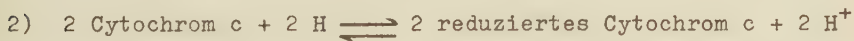
B i o c h e m i s c h e U n t e r s u c h u n g e n i n d e r W a r b u r g - A p p a r a t u r .

T h e o r e t i s c h e V o r b e m e r k u n g e n :

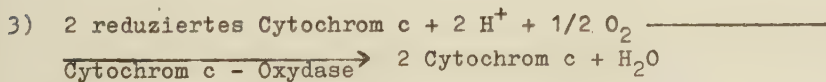
Zum Ablauf der Reaktion, bei welcher durch Dehydrierung der Bernsteinsäure Fumarsäure entsteht, ist Bernsteinsäuredehydrogenase als Katalysator notwendig.



Als passenden Wasserstoffacceptor wählten wir Cytochrom c, das im weiteren Verlauf der Reaktion folgendermaßen reduziert wird.

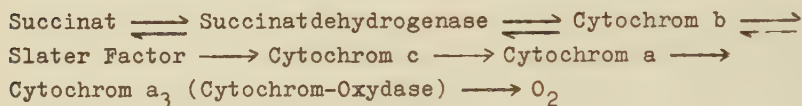


Damit die Reaktion normal weiter ablaufen kann, ist die Anwesenheit von genügend aktiver Cytochrom c - Oxydase Voraussetzung.



Durch Cytochrom c - Oxydase wird der Sauerstoff aktiviert und kann nun das reduzierte Cytochrom c wieder oxydieren, wobei Wasser entsteht, Sauerstoff verschwindet und Cyto-

chrom c wieder bereit ist zur Aufnahme eines neuen Wasserstoffmoleküls aus der Bernsteinsäuredehydrierung. Allerdings ist die Reaktion dieses, aus der Dehydrierung der Bernsteinsäure stammenden Wasserstoffs mit Sauerstoff erst nach Durchlaufen einer Fermentkette möglich. Diese Wasserstoffübertragung sieht etwa so aus (in Anlehnung an SLATER):



Theoretisch besteht durchaus die Möglichkeit, daß der Tetrachlorkohlenstoff an jeder beliebigen Stelle dieser Fermentkette den Ablauf der biochemischen Reaktionen stören kann. Eine genaue Lokalisation der Giftwirkung ist durch unsere Methode also nicht möglich. Da jedoch Cytochrom c im Überschuß zugesetzt wird, ist anzunehmen, daß der Angriffspunkt bei der Succinodehydrase liegt.

E r r e c h n u n g d e r G e f ä ß k o n s t a n t e n
nach POTTER (17):

Die Gefäßkonstante K wurde unter Verwendung folgender Zeichen errechnet:

K = die zu errechnende Gefäßkonstante

V_g = Gasvolumen im Gefäß und in den Verbindungsrohren bis zum "Nullpunkt" (150 mm am geschlossenen Teil des Manometers)

V_f = Flüssigkeitsvolumen im Gefäß (2,7 ml)

T = Temperatur des Wasserbades in absoluter Temperatur gemessen ($273 + 37^\circ\text{C} = 310$)

α = Löslichkeit in der Flüssigkeit im Glasgefäß, ausgedrückt in ml Gas/ml Flüssigkeit, wenn das Gas einen Druck von 1 at hat (760 Hg) und die Temperatur T herrscht.

$P_o = 760 \text{ Hg}$ (Normaldruck), ausgedrückt in Einheiten der Manometerflüssigkeit (= Brodie' Lösung, Dichte = 1,033)

In unserer Versuchsanordnung waren:

V_g = jeweiliges Totalvolumen abzüglich V_f

$V_f = 2,7 \text{ ml}$

$T = 310$

$\alpha = 0,024$

$P_o = 10,00$

Die Formel lautete:

$$K = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha}{P_o} = \frac{V_g \cdot \frac{273}{310} + 2,7 \cdot 0,024}{10,00} \\ = \frac{V_g \cdot 0,88 + 0,0648}{10} = \frac{V_g \cdot 0,9448}{10}$$

Lösungen im Ansatz (gering modifiziert nach POTTER (17):

0,5 ml	0,02 mol Sörensen - Phosphat - Puffer, pH 7,5	
0,5 ml	0,003 mol Aluminiumchlorid	} zu gleichen Teilen
	0,003 mol Calciumchlorid	
0,5 ml	0,04 mol Natrium-Succinat-Lösung, pH 7,4	
0,5 ml	Cytochrom "Mack" = 3 %ige sterile Injektions-	
	lösung von Cytochrom c in einer Verdünnung	
	1:2 = eine 1,5 %ige Lösung zum Versuch	

Gang der Untersuchung:

Nach dem Ausbluten wurden den Tieren zunächst die Leber, dann die Lunge bzw. in späteren Versuchen das Herz, und erst dann beide Nieren entnommen. Trotzdem vergingen zwischen Töten und der Aufarbeit nur etwa 5 Minuten. Die Nieren wurden dekapsuliert und anschließend gewogen. Die gewogenen Organe wurden in ein Homogenisiergefäß (25 ml Volumen) des Homogenisators gegeben. Dazu wurde die neunfache Menge des Organgewichtes einer eisgekühlten 1,11 %igen KCl-Lösung

einpipettiert (= 1:10). Das Ganze wurde eine Minute lang bei einer Temperatur von etwa 0°C homogenisiert. Das Homogenat wurde durch Mull grob filtriert. Diesem filtrierten Homogenat wurde 1 ml entnommen und dazu erneut 4 ml der 1,11 %igen KCl-Lösung pipettiert (= 1:5). Von diesem Gemisch, das nun in der Lösung 1:50 20 mg Feuchtgewicht an Nierengewebe pro Milliliter enthält, wurden 0,5 ml, also 10 mg Niere, in das Reaktionsgefäß zu dem vorher schon einpipettierten Ansatz dazugegeben.

Der Glaszylinder des Reaktionsgefäßes enthält 0,2 ml einer 1-5 %igen Kalilauge zur Aufnahme des CO_2 , dazu 3 cm^2 mehrfach gefaltetes Filterpapier zur Oberflächenvergrößerung.

Die gefüllten Reaktionsgefäße wurden mit den Manometern in die Warburg-Apparatur eingesetzt, in der das Wasserbad eine Temperatur von 37°C betrug. Nach 7 Minuten Temperatúrausgleich wurde in fünfminütigen Abständen 30 Minuten lang abgelesen. Die abgelesenen Werte wurden in ein Koordinatensystem eingetragen. Um aus den Kurven den Sauerstoffverbrauch ($\text{mm}^3/10\text{ mg Feuchtgewicht Niere/eine Stunde}$) zu errechnen, wurden die gefundenen Werte extrapoliert und der Endwert mit zwei (Stundenwert) und der jeweiligen Gefäßkonstanten multipliziert. Von jedem Tier, vergiftet wie unvergiftet, wurden jeweils zwei Reaktionsgefäße beschickt, so daß wir für jedes Tier Doppelwerte erhielten (siehe Abbildung 1). Aus beiden Werten wurde der Mittelwert errechnet. Die Streuung bei unseren Mittelwerten betrug in der Regel nicht mehr als 3 %, nur in einzelnen extremen Fällen waren es 6 bis 7 % .

Folgende Versuchsreihen wurden unternommen:

1. 89 Ratten erhielten 0,04 ml pro 100 g Ratte Tetrachlorkohlenstoff bzw. physiologische Kochsalzlösung. Nach den ersten 35 Versuchen, von denen 15 Vorversuche waren, erhielten die Ratten standardisiertes Futter in Form von Körnern.

In Vorversuchen wurde festgestellt, welche Menge Succinat-Lösung und Cytochrom c für unsere Fermentbestimmungen am geeignetsten seien. Wir verwandten dann für die eigentliche Versuchsreihe an 24 Ratten Succinat-Lösung, 0,04 mol und Cytochrom c 1,5 %ig, weil unter diesen Bedingungen die Werte am höchsten lagen.

2. In einer Reihe von Zwischenversuchen (16 Ratten) wurde die Dosis verändert, jedoch Applikationsart und Dauer der Gifteinwirkung konstant gehalten. Drei Ratten erhielten 0,08 ml; drei Ratten 0,16 ml; acht Ratten 0,24 ml und fünf Ratten 0,5 ml auf jeweils 100 g Körpergewicht Tetrachlorkohlenstoff bzw. physiologische Kochsalzlösung. Die meisten Tiere wurden sechs bis acht Stunden nach der Vergiftung getötet.

3. In einer dritten Reihe erhielten 15 Ratten die dreifache Menge der Ausgangsdosis (siehe 1.), das sind 0,12 ml/100 g Ratte Tetrachlorkohlenstoff bzw. physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert.

4. In dieser Reihe wurden 40 Ratten mit der 7,5-fachen Menge der Ausgangsdosis (siehe 1.) intraperitoneal mit Tetrachlorkohlenstoff bzw. physiologischer Kochsalzlösung gespritzt.

In den beiden letzten Reihen wurden, wie bei 1., Verlaufsserien durchuntersucht und die Tiere 30 Minuten bis 38 Stunden nach der Injektion getötet.

5. In dieser Reihe wurde die Applikationsart geändert und eine Verlaufsserie untersucht. 16 Ratten erhielten Tetrachlorkohlenstoff, 1:100, in Olivenöl gelöst, subcutan injiziert. Wir begannen mit 2,1 ml dieser Lösung pro 100 g Ratte zu dosieren und steigerten die Dosis auf das Doppelte. Die Injektion erfolgte in einen oder beide hintere Schenkel des Tieres. Die Kontrollratten erhielten die gleiche Menge

reines Olivenöl in gleicher Form injiziert. Höher zu dosieren war nicht möglich, da die Injektionsfläche zu klein war. Schon während des Spritzens lief ein Teil der Flüssigkeit wieder aus der Injektionsstelle. So wurde die Dosierung zu ungenau. Nach 5-10 Stunden wurden die Tiere getötet.

II.

H i s t o l o g i s c h e U n t e r s u c h u n g e n .

An 72 Rattennieren wurden zusätzlich zu den biochemischen Untersuchungen oder auch allein histologische Untersuchungen durchgeführt. Wir nahmen dazu Ratten gleicher Rasse und gleichen Geschlechts wie zu den biochemischen Versuchen. Die Tiere lebten unter den gleichen Bedingungen und wurden in der gleichen Form (intraperitoneal) vergiftet und getötet wie früher beschrieben. Die Vergiftungszeit betrug 30 Minuten bis 38 Stunden. Der Dosierung nach trennen wir 3 Reihen:

- 1) 0,04 ml/100 g Ratte (20 Ratten)
- 2) 0,12 ml/100 g Ratte (18 Ratten)
- 3) 0,3 ml/100 g Ratte (30 Ratten)

Nach dem Dekapitieren der Ratte wurden die Nieren sofort entnommen und dekapsuliert. Aus einer Niere wurde mit einer scharfen Rasierklinge ein 2-3 mm dicker Keil herausgeschnitten und sofort zum Fixieren in Halley's Lösung gelegt. Wurde gleichzeitig ein Versuch zum Vergleich im Warburg-Apparat gemacht, so wurde der Rest der Nieren gewogen und für den biochemischen Versuch verwandt. Das für die histologische Untersuchung herausgeschnittene Organstückchen verblieb 30-40 Minuten in der Fixierlösung und wurde anschließend in fließendem Wasser gewässert. Nach 24 Stunden wurde das fixierte Material aus dem Wasser genommen und in Paraffin

gegossen. Später wurden 3-5 μ dicke Schnitte hergestellt,
die

- a) mit Hämatoxylin - Eosin und
- b) nach der kombinierten Methode: van Gieson und
Weigert - Elastica gefärbt wurden.

Versuchsergebnisse.

I.

Bestimmung der Aktivität der Succino-Oxydase in der Warburg'schen Apparatur nach einmaliger intraperitonealer Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.

A. Vorversuche:

An 15 Ratten wurden Vorversuche durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, welche Mengen Na-Succinat-Lösung und Cytochrom c für die Bestimmung von Succino-Oxydase speziell in der Niere am geeignetesten sind. Bei sieben Versuchen wurde 0,2 mol Na-Succinatlösung verwandt und Cytochrom c 1:3,75 verdünnt zugesetzt. Bei acht Versuchen wurde 0,2 mol Na-Succinatlösung 1:5 mit aqua dest. verdünnt und Cytochrom c in 3 verschiedenen Formen dazugegeben: unverdünnt, 1:2 und 1:3,75 verdünnt. Dabei stellte sich heraus, daß 0,04 mol Na-Succinatlösung und die Verdünnung 1:2 bei Cytochrom c die höchsten Werte ergaben, so daß wir in den folgenden Versuchen diese Mengen verwandten.

(Siehe Abbildung 1 und 2 und Tabelle 1.)

Man ersieht aus den Kurven, daß die Werte bei höher molarer Succinatlösung tiefer liegen als bei nieder molarer; ebenso sind die Werte je nach der Cytochrom c - Verdünnung verschieden hoch. Die Verdünnung 1:2 zeigt jeweils die höchsten Werte. Diese Kurve ist typisch für alle anderen Cytochrom c - Versuche zur Feststellung der brauchbarsten Verdünnung. Die Tabelle 1 enthält die Werte für den Sauerstoffverbrauch pro 10 mg Feuchtgewicht Niere aller Cytochrom c - Versuche und zeigt übersichtlich, daß mit zwei Ausnahmen die höchsten

Werte bei einer Verdünnung von 1:2 gefunden werden.

Tabelle 1

Sauerstoffverbrauch / 10 mg Niere / 1 Std. (in mm³)
 Cytochrom c : unverdünnt 1 : 2 1 : 3,75

258	266	228
221	246	213
235	246	217
217	210	186
198	232	133
204	208	215
148	153	152
122	137	186

B. 1. Verlaufsserie:

Im Folgenden wurden 35 Ratten mit 0,04 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte und 35 Ratten zur Kontrolle mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal gespritzt. Die Ratten wurden 2, 4, 6, 8, 9, 10, 12, 24, 32 Stunden und 3, 5, 6, 7 und 8 Tage nach der Injektion getötet. Die ersten 20 Tiere (je 10 vergiftet und unvergiftet) dieser Verlaufsserie waren noch nicht mit einem standardisierten Futter gefüttert worden. Diese lagen mit ihren Werten etwas tiefer, als die Tiere mit einheitlichem Trockenfutter. Unabhängig davon ist bei dieser ersten Serie mit der geringen Vergiftungsdosis keinerlei Änderung in der Fermentaktivität des Succinoxidase-Systems zu irgendeinem Zeitpunkt festzustellen. (Siehe Abbildung 3 und 4)

Eine Abhängigkeit vom Futter scheint im Ganzen zu bestehen. Der Sauerstoffverbrauch liegt bei den Tieren, vergiftet wie unvergiftet, seit sie mit standardisiertem Futter

gefüttert werden, im Ganzen höher. Zwischen dem Sauerstoffverbrauch der vergifteten und der unvergifteten Ratten sind keine wesentlichen Unterschiede zu sehen. Die Mittelwerte aller Doppelversuche liegen bei vergifteten wie unvergifteten Ratten auf gleicher Höhe. (Vergleiche Abbildung 3 und 4)

In der Tabelle 2 sind die Meßwerte aus den gleichen Versuchen wie in Abbildung 3 und 4 nochmals zusammengestellt. Dabei wurde aber jetzt der Quotient aus der Aktivität der vergifteten zu den unvergifteten Tieren, die im Einzelversuch zusammengehörten, einzeln errechnet. Jeder V_i - und V_k - Wert stellt den Mittelwert aus einer Doppelbestimmung dar. Die Quotienten liegen um 1; die Abweichung von 1 ist nur in einem Fall mit 0,68 beträchtlich.

Tabelle 2

Werte aus Abb. 3

Dauer der Gifteinwirkung (Std.)	Dosis ml CCl_4 pro 100 g	Gewicht in g	V_i	V_k	$\frac{V_i}{V_k}$
2	0,04	84	239	222	1,08
2 1/2	0,04	103	204	225	0,91
6	0,04	88	212	191	1,11
6 1/2	0,04	101	230	229	1,00
8 1/2	0,04	89	231	243	0,95
10	0,04	103	174	193	0,90
24	0,04	81	198	197	1,00
25	0,04	93	171	252	0,68
72	0,04	85	187	226	0,83
			1846	1978	0,93

Werte aus Abb. 4 (standardisiertes Futter)

Dauer der Gifteinwir- kung (Std.)	Dosis ml CCl_4 pro 100 g	Gewicht in g	V_i	V_k	$\frac{V_i}{V_k}$
2	0,04	102	283	285	0,99
2	0,04	105	276	298	0,93
6	0,04	102	238	206	1,16
6	0,04	92	230	241	0,95
6	0,04	92	245	251	0,98
6 1/2	0,04	89	237	245	0,97
7 1/2	0,04	99	233	224	1,04
8 1/2	0,04	104	283	291	0,97
10	0,04	100	192	222	0,86
10	0,04	113	255	246	1,03
24	0,04	90	237	307	0,77
24	0,04	91	261	294	0,89
72	0,04	110	272	274	0,99
72	0,04	89	253	237	1,06
120	0,04	92	247	273	0,90
120	0,04	99	247	209	1,18
120	0,04	87	268	288	0,93
144	0,04	91	284	252	1,12
144	0,04	101	266	266	1,00
144	0,04	96	263	241	1,09
168	0,04	84	260	292	0,89
168	0,04	96	314	237	1,32
192	0,04	103	292	251	1,16
192	0,04	98	238	243	0,98
			6174	6173	1,00

In dieser ersten Serie wurde der Verlauf der Vergiftung in der Rattenmiere bei gleichbleibender Dosierung und Applikationsart geprüft. Die Zeit der Gifteinwirkung war verschieden lang. Eine signifikante Veränderung der Fermentaktivität konnte nicht gefunden werden.

C. Zwischenversuche:

Es wurde deshalb eine Reihe von Zwischenversuchen angestellt, bei denen die Vergiftungsdosis gesteigert wurde. Der Zeitpunkt der Tötung post injektionem sollte annähernd konstant gehalten werden und auch die Applikationsart (intraperitoneal) blieb die gleiche. Dabei wurde ein Zeitpunkt gewählt, zu dem bei der Leber ein sicherer Abfall der Aktivität gefunden wurde. Es wurden 2 Ratten mit 0,08 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte intraperitoneal vergiftet und etwa sechs Stunden später getötet. Bei dieser Dosierung lagen die Werte für den Sauerstoffverbrauch deutlich tiefer als bisher.

Zwei Ratten erhielten 0,16 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte und wurden ebenfalls etwa sechs Stunden später getötet. Die Werte für den Sauerstoffverbrauch blieben hierbei in Höhe der Kontrollwerte.

Vier Ratten erhielten 0,24 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte und wurden etwa vier, sechs und acht Stunden nach der Injektion getötet. Ein Tier wurde kurz nach spontanem Exitus gefunden und die Nieren sofort entnommen, jedoch noch drei Stunden im Eissschrank aufgehoben, ehe sie aufgearbeitet wurden. (Das war das einzige Mal, daß Organe eines zugrunde gegangenen Tieres zum Versuch verwandt wurden.) Auch bei dieser Dosierung lagen die Werte meist tiefer als die Kontrollwerte.

Vier Ratten erhielten 0,5 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte. Zwei dieser Tiere wurden zwei bis fünf Stunden nach der Injektion tot aufgefunden und nicht zu Versuchen verwandt. Eine Ratte, die sich nach kurzem Schock rasch erholte, verfiel zehn Minuten später in einen lethargischen Zustand. Nach zwei Stunden sah man bei dem Tier eine deutliche Linsentrübung, die Atemzüge waren flach und selten. 2 1/2 Stunden post injektionem wurde das Tier getötet. Wir fanden etwa 2-3 ml blutig-seröser Flüssigkeit in der Bauchhöhle und stark blutgefüllte Nieren von dunkelroter Farbe an der Ober- und Schnittfläche. Die vierte vergiftete Ratte wurde ganz langsam gespritzt und zeigte keinen Schockzustand. Dies Tier wurde 8 1/2 Stunden später getötet. Das Kontrolltier, das offenbar durch zu schnelles Spritzen in einen kurzen Schock geriet, erholte sich rasch und war munter bis zur Tötung. Wir fanden im Gegensatz zu den vergifteten Ratten keinen Aszites, und die Werte für den Sauerstoffverbrauch lagen an der oberen Grenze der Streuung trotz Schock. Der Sauerstoffverbrauch der beiden vergifteten Tiere war deutlich vermindert.

Aus den Resultaten der Zwischenversuche (vergleiche Tabelle 3) ist zu ersehen, daß die Werte für den Sauerstoffverbrauch, außer bei einer Dosierung von 0,16 ml Tetrachlorkohlenstoff/100 g Ratte, durchweg tiefer liegen als die Werte der Kontrolltiere. Ein Vergleich mit der ersten Verlaufsreihe zeigt, daß sie auch tiefer liegen als die mit 0,04 ml vergifteten Tiere und deren Kontrolltiere. Bei einer Steigerung der Vergiftungsdosis auf das Doppelte der Ausgangsdosis von 0,04 ml ist die Fermentaktivität bereits abgefallen. Bei weiterer Steigerung der Dosierung nimmt jedoch der Abfall nicht kontinuierlich zu. Die mit 0,08 ml verursachte Verminderung der Aktivität wird bei einer drei- bis sechsfachen Erhöhung dieser Dosis nicht stärker.

Tabelle 3

Gewicht g	Dosis ml/100 g	Dauer der Giftein- wirkg.(Std.)	Sauerst.- Verbrauch mm ³ /10 g/Std.	Bemerkungen
98	Kontrolle	5 ^h 30 ^m	216	
89	0,08	6 15	193	
102	0,08	6 30	177	
96	Kontrolle	7 ^h 25 ^m	206	
121	0,16	6 00	218	mäßiger Aszites
105	Kontrolle	9 ^h 00 ^m	265	
112	Kontrolle	8 35	229	
122	0,24	3 45	208	
114	0,24	4 45	196	kurz nach sponta- nem Exitus gefun- den; Niere nicht sofort verarbeitet.
98	Kontrolle	6 ^h 00 ^m	249	
108	0,24	6 00	223	
81	Kontrolle	7 45	241	
136	0,24	7 40	186	
95	Kontrolle	6 ^h 25 ^m	233	kurzer Schock, dann sehr leb- haft.
102	0,5	8 25	177	
100	0,5	2 35	175	kurzer Schock, 10 Min. später lethargisch, nach 2 Std. Atemzüge flach und selten, Linsentrübung; blutig- seröser Aszites, Nieren dunkel- rot, blutgefüllt.

Dieses Ergebnis, daß höhere Dosierung ein Absinken der Aktivität zur Folge hatte, veranlaßte uns, zwei weitere Versuchsreihen durchzuführen, bei denen wieder der zeitliche Ablauf studiert wurde. Dabei wurde die Dosis einmal auf das Dreifache und das andere Mal auf das 7,5-fache der Ausgangsdosis von 0,04 ml erhöht.

D. 2. Verlaufsserie:

Zehn Ratten wurden mit 0,12 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte und fünf Kontrollratten mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal gespritzt. Sämtliche vergifteten Ratten waren nach der Injektion kurze Zeit benommen, um anschließend umso lebhafter zu sein.

1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, und 12 Stunden nach der Injektion wurden die Tiere getötet. Die vergifteten Tiere hatten einen mäßigen Aszites, den die Kontrolltiere nicht aufwiesen. Die Nieren der vergifteten Tiere waren dunkelrot und blutgefüllt, im Gegensatz zu den blassen Nieren der Kontrolltiere. Einige wenige Nieren vergifteter Tiere waren auffallend blaß. Alle Nieren ließen sich leicht dekapulieren und schneiden.

Wie aus der Kurve (Abbildung 5) ersichtlich ist, tritt bei dieser Dosierung bereits nach zwei Stunden eine Hemmung der Fermentaktivität ein. Der Sauerstoffverbrauch erreicht nach 6-12 Stunden seine tiefsten Werte.

Ein gesetzmäßiger Verlauf wie bei den Messungen der vergifteten Leber (25) läßt sich jedoch nicht ablesen. Es kann bei der relativ kleinen Zahl der Einzelmessungen nur gesagt werden, daß die Mittelwerte sämtlicher Messungen bei den vergifteten Tieren tiefer liegen als bei den unvergifteten Tieren (Tabelle 4). Es kann daraus geschlossen werden, daß bei einer Dosis von 0,12 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Körpergewicht das Succinooxydase-System gestört

wird und daß diese Störung vermutlich schon früh einsetzt. Weitere Aussagen über den Verlauf lassen sich aber noch nicht treffen. Vergleicht man die Mittelwerte der vergifteten Tiere der ersten Verlaufsserie, die ja denen der Kontrolltiere praktisch gleich sind, mit denen dieser zweiten Verlaufsserie, so ergibt sich eine Verminderung des Sauerstoffverbrauchs pro 10 mg Niere um 26 % .

E. 3. Verlaufsserie:

In einer weiteren Verlaufsserie erhielten 35 Ratten 0,3 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte intraperitoneal, das ist die 7,5-fache Menge der Ausgangsdosis (0,04 ml). Dazu wurden fünf Kontrolltiere mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung gespritzt. Die meisten vergifteten Tiere waren unmittelbar nach der Injektion lebhaft, wurden aber sehr schnell apathisch bzw. gar lethargisch. In diesem Zustande verblieben sie bis zur Tötung ohne auf irgendwelche Reize anzusprechen. Einige Tiere bissen heftig um sich, bis auch sie in den apathischen Zustand verfielen. Sieben Ratten wurden nach 2-5 Stunden tot aufgefunden und nicht zu Versuchen verwandt, damit in unsere Versuchsergebnisse keine Folgen von Autolyse eingehen. 30 Minuten, 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 4, 6, 6 1/2, 7 1/2, 8, 10, 12, 16 1/2 und 38 Stunden nach der Injektion wurden die überlebenden Tiere getötet. Außer den Kontrolltieren hatten nur 3 vergiftete Ratten keinen Aszites. Alle übrigen vergifteten Tiere zeigten einen mäßigen, häufig blutig-serösen Aszites. Die Nieren der Kontrolltiere waren von blaßroter Farbe; die der vergifteten Tiere, mit drei Ausnahmen, die ebenfalls blaß waren, zeigten eine rote bis dunkel-braunrote Farbe an der Ober- und Schnittfläche und waren reichlich mit Blut gefüllt. Bemerkenswerterweise fanden wir bei dem einen Tier mit sehr blasser Niere, das 38 Stunden nach der Injektion getötet war, auch einen sehr tiefen Wert für den Sauerstoffverbrauch.

Die Kurve dieser Verlaufsserie (Abbildung 6) läßt ebenfalls schon zwei Stunden nach der Vergiftung ein merkliches Absinken des Sauerstoffverbrauchs erkennen. Der Abfall ist deutlicher als bei der Serie 2. und hat nach sechs Stunden sein Maximum erreicht. Wir erhalten jetzt einen Verlauf, wie er ungefähr den Messungen bei vergifteten Lebern entspricht. Die Differenz zwischen dem Mittelwert der Kontrolltiere und dem der vergifteten Tiere ist noch größer als bei Serie 2. Der aus den Mittelwerten errechnete Quotient $V_i : V_k$ beträgt hier 0,75; während er bei der Serie 2. 0,89 betrug. Der Sauerstoffverbrauch pro 10 mg Niere war in dieser Serie gegenüber der 1. Serie um 34 % niedriger. Er lag also unter dem der 2. Serie.

Die Tabelle 4 zeigt die Mittelwerte für den Sauerstoffverbrauch pro 10 mg Niere aus den Verlaufsserien 1, 2 und 3, mit Ausnahme der 1/2-Stundenwerte, weil zu dieser Zeit auch bei den Leberversuchen noch keine Veränderungen zu beobachten waren.

Tabelle 4

	Serie 1.	Serie 2.	Serie 3.
ml/100 g	0,04	0,12	0,3
Unvergiftet	259	213	227
Vergiftet	258	191	171
$V_i : V_k$	1,00	0,89	0,75

Es wird also deutlich, daß nach intraperitonealer Vergiftung mittlerer Dosierung eine Hemmung der Zellatmung auch in der Niere eintritt. Das Absinken des Sauerstoffverbrauchs ist in der Niere jedoch geringer als in der Leber und nur bei einer sehr hohen Dosierung zu beobachten.

F. 4. Verlaufsserie:

Es war deshalb zu prüfen, ob diese Diskrepanz in der Dosierung von der Applikationsart abhängig ist. Wir schlossen eine Verlaufsserie an, bei der wir das Gift, in Öl gelöst, subcutan verabreichten. Die Dosierung betrug bei 3 Ratten 0,21 ml Tetrachlorkohlenstoff (1:10 in Öl gelöst). Acht Ratten erhielten die doppelte Dosis. Fünf Kontrolltiere wurden jeweils mit der gleichen Menge reinen Olivenöls subcutan gespritzt. Eine höhere Dosierung zu weiteren Untersuchungen war nicht möglich, da das Gift teilweise wieder ausfloß und die Dosierung somit ungenau wurde.

6, 8, 9, 12, 13, 15, 24, 26 1/1 und 50 Stunden nach der Injektion wurden die Ratten getötet. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse dieser Reihe mit denen der vorhergegangenen Versuchsreihen ist nicht möglich, weil die Dosierung bei subcutaner Verabreichung höher liegen muß als bei intraperitonealer Verabreichung. Außerdem ist bei dieser Applikationsart auch ein anderer zeitlicher Ablauf zu erwarten. Immerhin ist zu sehen, daß bei subcutaner Applikation auch bei extrem hoher Dosierung die Fermentaktivität nicht gestört wird. Die Werte für den Sauerstoffverbrauch lagen durchweg in Höhe der Kontrollwerte. (Abbildung 7). Diese Befunde dürften mit den histologischen Beobachtungen von JENNINGS und KEARNS (12) übereinstimmen.

II.

Histologische Untersuchungen
an Rattennieren nach
einmaliger intraperitonealer
Tetrachlorkohlenstoff-
vergiftung.

An 72 Ratten wurden histologische Untersuchungen durchgeführt, um morphologisch erkennbare Veränderungen mit den manometrisch faßbaren vergleichen zu können. Nachdem wir festgestellt hatten, daß die übliche Fixation und Färbung für unsere Untersuchungen nicht ausreichend waren, wählten wir die früher beschriebene Methode (siehe Seite 15). Wir führten analoge histologische einzelne Verlaufsserien durch. Dazu machten wir immer wieder Stichproben in der Warburg-Apparatur. Nur bei der Serie 1 mit der Dosis 0,04 ml/100 g Ratte wurden keine Stichproben angestellt, da ausreichend erwiesen war, daß keine Veränderungen manometrisch zu erfassen sind.

1. 18 Ratten wurden mit 0,04 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte intraperitoneal gespritzt, dazu 2 Kontrolltiere mit physiologischer Kochsalzlösung. 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 und 12 Stunden nach der Injektion wurden die Tiere getötet. Im mikroskopischen Bild der Niere finden wir in den ersten 2 Stunden keinerlei Veränderungen. Erst in der dritten Stunde geht die Stäbchenstruktur des Cytoplasmas zum Teil verloren. Die Strukturen erscheinen überall ein wenig aufgelockert. Tropfige Entmischung wird sichtbar. Diese Veränderungen schreiten ganz allmählich fort. Nach zehn Stunden werden perinukleäre Auflockerungen sichtbar, und nach der zwölften Stunde sehen wir daneben eine ziemliche ausgeprägte Kernpolymorphie. Insgesamt sind bei dieser niederen Dosierung keine schweren histologischen Veränderungen in den Nieren zu beob-

achten. Wir steigerten die Dosis auf das Dreifache und wiederholten damit die zweite Verlaufsserie der manometrischen Untersuchungen.

2. 16 Ratten werden mit 0,12 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte intraperitoneal gespritzt, dazu 2 Kontrolltiere mit physiologischer Kochsalzlösung. 30 Minuten, 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 4, 9 1/2, 10 und 12 Stunden nach der Injektion werden die Tiere getötet. Bei dieser stärkeren Vergiftung sehen wir nach 30 Minuten im mikroskopischen Bild ganz vereinzelt Auflockerung im Zellgefüge der Hauptstücke, finden jedoch sonst keinerlei Veränderungen. Eine Stunde nach der Vergiftung tauchen vereinzelt ganz frische Eiweißzylinder in den Tubuli der Hauptstücke auf. Nach drei Stunden ist das Cytoplasma schon wesentlich mehr schaumig aufgelockert und in den Hauptstücken werden perinukleäre Aufhellungen sichtbar. Diese Veränderungen waren besonders ausgeprägt im Gebiet der Henle'schen Schleife. Die Veränderungen hatten im Laufe der zwölf Stunden, in denen wir untersuchten, gleichmäßig zugenommen.

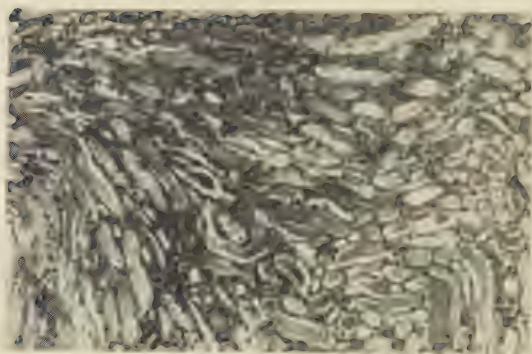
3. Analog der dritten Verlaufsserie steigerten wir auf das 7,5-fache der Ausgangsdosis und spritzten 27 Ratten mit 0,3 ml Tetrachlorkohlenstoff pro 100 g Ratte intraperitoneal, dazu 3 Kontrolltiere mit physiologischer Kochsalzlösung. 40, 50 Minuten, 1, 1 1/2, 2, 2 1/2, 3, 3 1/2, 4, 6 1/2, 10, 10 1/2, 14, 16 1/2 und 38 Stunden nach der Injektion wurden die Tiere getötet. 23 vergiftete Ratten konnten untersucht werden, 4 Ratten wurden 2-7 Stunden post injectionem tot aufgefunden und zum Versuch nicht verwandt. Die Kontrolltiere wurden nach 4, 10 1/2 und 38 Stunden getötet. Nach 1, 2, 3, 4 und 10 1/2 Stunden wurde jeweils ein Doppelversuch in der Warburg'schen Apparatur gemacht, um direkte Vergleiche zu haben. Bei dieser hohen Dosierung sehen wir im mikroskopischen Bild der Niere bereits nach

55 Minuten erhebliche cytoplasmatische Auflockerungen und vereinzelte homogene Zylinder. Nach zwei Stunden sind die Veränderungen massiv. Hierzu zwei Beispiele:

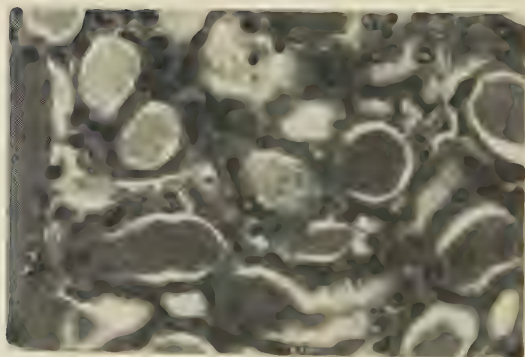
Ratte 206: Eiweißzylinder, hyaline Zylinder in den Tubuli. Beginnende schaumige Auflockerungen im Cytoplasma der Zellen; Kernpyknosen werden sichtbar. Die mikrophotographischen Aufnahmen zeigen zahlreiche Tubulonekrosen im Anfangsstadium, Kernpyknosen und hyaline Zylinder in den Tubuli. Ratte 217: Erhebliche Zellschädigung. Zylinderbildung und tropfige Entmischung und Speicherung. Die Glomeruli erscheinen stark hyperämisch. Diese Hyperämie in den Glomeruli ist im übrigen bereits nach 1 1/2 Stunden zu sehen. Nach 3, 4, 5 und 6 Stunden sind die gleichen Veränderungen zu finden, im einzelnen jedoch etwas stärker noch ausgeprägt. Die Abbildung 8 zeigt die beschriebenen Veränderungen. (Ratte 210, 6 Stunden nach 0,3 ml Tetrachlorkohlenstoff auf 100 g Ratte. Die histologischen Veränderungen in den Nieren sind in dieser Versuchsreihe mit der starken Dosierung recht erheblich und bereits nach zwei Stunden voll ausgebildet.

Wir haben die einzelnen Veränderungen systematisiert und in einer Tabelle zusammengefaßt. Betrachten wir die Tabelle 5, so ist mit einem Blick erkennbar, daß schon bei niedriger Dosierung leichte Veränderungen im histologischen Bild auftreten. Diese Veränderungen finden sich relativ spät und sind leicht. Nekrosen fehlen bei der niederen Dosierung ganz, während Zylinder bereits gefunden werden. Es ist möglich, daß bei dieser Dosierung bereits zu einem früheren Zeitpunkt eine erhöhte Durchlässigkeit für Eiweiß in den Glomeruli resultiert, wofür die Zylinderbildung und tropfige Speicherung sprächen. Demgegenüber besteht bei mittlerer Dosierung ein Unterschied darin, daß die pathologischen Veränderungen früher und insgesamt stärker auftreten. Bei der 7,5-fachen Vergiftungsdosis dagegen finden wir mit Sicherheit schon früh und auch ausgedehnte pathologische Veränderungen im Nierengewebe. Es sind bereits nach

Abbildung 8



Übersicht



Tubulusaufnahme

Ratte 2704: Massive Zylinderbildungen bis weit ins Mark reichend; vereinzelt Eiweißausschwitzung in die Kapsel; schwere Tubulonekrosen.

6 Stunden nach der Vergiftung mit 0,3 ml Tetrachlorkohlenstoff auf 100 g Ratte.

1-2 Stunden zahlreiche Zylinder zu sehen, und bereits nach einer Stunde finden wir beginnende Nekrosen in den Tubuli, also eine direkte Schädigung der Zellen.

Tabelle 5

Zeit: Stunden	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12
<u>Dosis: 0,04 ml</u>											
Zylinder:	0	0	0	+		+		+		++	++
tropfige Entmischung:	0	0	0	+		+		+		++	++
Hyperämie d. Glomeruli:	0	0	0	0		0		0		+	+
Auflockerung:	0	+	+	+		+		+		++	++
Kernpyknosen:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nekrosen:	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dosis: 0,12 ml

Zylinder:	+	+	+			+			+	+	++
tropfige Entmischung:	+		+						+	+	++
Hyperämie d. Glomeruli:	0	+	+						0	0	+
Auflockerung:	+	+	++			+			++	++	+++
Kernpyknosen:	0		0			++			0	0	+
Nekrosen:	0		0			++			0	0	0

Dosis: 0,3 ml

Zylinder:	+	++	++	++		+++					
tropfige Entmischung:	+	+	++	++							
Hyperämie d. Glomeruli:	++	++	+++	+++		+++					
Auflockerung:	++	++	+++	+++		+++					
Kernpyknosen:	0	+	++	++		++					
Nekrosen:	+	+	++	++		+++					

D i s k u s s i o n .

Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen, die bei gleichen experimentellen Untersuchungen in der Leber gefunden wurden, so zeigt sich zunächst ein Unterschied in der Enzymaktivität der unvergifteten Tiere. Die Sauerstoffaufnahme pro Zeiteinheit ist im Nierenhomogenat ungefähr 1 1/2 mal so groß wie im Leberhomogenat.

Weiterhin zeigt sich, daß eine Verminderung der Enzymaktivität in der Niere erst nach der Zufuhr der 3- bzw. 7-fachen Dosis von Tetrachlorkohlenstoff eintritt. Dabei wird das Ausmaß der Aktivitätsminderung der Leber nicht einmal bei Applikation der 7-fachen Dosis erreicht. Unabhängig von der höheren Enzymaktivität beim Normaltier wird also bei der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung in der Niere erst bei einer mehrfachen Dosis eine Störung im Succinoxydase-System meßbar.

Ein weiterer Unterschied besteht in der zeitlichen Übereinstimmung des Auftretens von Enzymläsion und morphologischen Veränderungen. Während in der Leber der Abfall der Succinoxydase etwa vier Stunden früher als die morphologischen Veränderungen auftritt, sind in der Niere im gleichen zeitlichen Abstand nach der Zufuhr von Tetrachlorkohlenstoff die Aktivitätsminderung und die histologischen Veränderungen festzustellen. Beiden Organen gemeinsam ist es allerdings, daß im zeitlichen Ablauf die histologischen Veränderungen umso deutlicher und schwerer sind, je stärker der Aktivitätsabfall ist.

In der Leber geht die Enzymschädigung der zunächst noch leichteren morphologischen Schädigung, der Verfettung, vor-

aus. In der Niere findet man bei einer Dosierung, die noch keine meßbare Enzymschädigung verursacht, bereits leichtere morphologische Veränderungen. Bei Zufuhr jener Dosis, die enzymatische und histologische Veränderungen macht, tritt die morphologische Veränderung ebenso schnell wie die enzymatische auf. Während man also in der Leber mit der Bestimmung der Aktivität im Succinooxydase-System submikroskopische Veränderungen in der Zelle erfassen kann, ist dies bei der Niere nicht möglich.

Die Frage, ob es sich bei den Nierenveränderungen nicht um eine Schockniere handelt und die biochemischen und morphologischen Veränderungen Folge einer Mangel durchblutung sind, die durch einen Blutdruckabfall bedingt sind, ist zu verneinen. JENNINGS und KEARNS haben bei vergleichbarer Dosierung einen starken Blutdruckabfall gemessen. Dennoch sind sie der Meinung, daß die gefundenen Veränderungen toxischer Natur sind, weil die subcutane Vergiftung mit Chloroform die gleichen morphologischen Veränderungen hervorrief, obwohl hierbei kein Schock bzw. Blutdruckabfall eingetreten war. Im übrigen entsprechen die gefundenen Veränderungen weder makroskopisch noch mikroskopisch denen einer Schockniere.

Bemerkenswert sind noch unsere Ergebnisse bei subcutaner Applikation. Hierbei fanden wir auch bei relativ hohen Dosen keinen Abfall der Sauerstoffaufnahme. Das entspricht den Befunden von JENNINGS und KEARNS, die bei subcutaner Injektion ebenfalls hoher Dosen keine morphologischen Veränderungen an den Nieren gefunden hatten. Die Ursache dafür dürfte darin liegen, daß bei subcutaner Injektion keine so hohe Konzentration von Tetrachlorkohlenstoff in der Niere erreicht werden kann, wie sie für eine Schädigung notwendig ist.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

1. Bei einmaliger intraperitonealer Zufuhr von 0,04 ml Tetrachlorkohlenstoff pro kg Körpergewicht ist - im Gegensatz zur Leber - in der Niere von Ratten kein Abfall der Succinooxydase festzustellen. Die histologischen Veränderungen sind gering und uncharakteristisch. Bei der 3-fachen Dosis kommt es zu einer Minderung der Enzymaktivität von durchschnittlich 26 % und bei der 7-fachen Dosis von durchschnittlich 34 %. In Übereinstimmung hiermit nehmen mit steigender Dosierung die histologischen Veränderungen zu. Bei der circa 7-fachen Dosis (0,3 ml Tetrachlorkohlenstoff pro kg Körpergewicht) finden sich cytoplasmatische Auflockerungen, Zylinderbildung, tropfige Entmischung und Nekrosen.
2. Der zeitliche Ablauf dieser Veränderungen nach einmaliger intraperitonealer Injektion zeigt einen charakteristischen Verlauf. Der Abfall in der Enzymaktivität setzt bereits nach zwei Stunden ein und erreicht nach etwa acht bis zwölf Stunden sein größtes Ausmaß. In Übereinstimmung damit sind bereits nach zwei Stunden mit dem Beginn des Enzymabfalls auch schon morphologische Veränderungen vorhanden. Diese sind nach drei bis sechs Stunden am stärksten ausgeprägt.
3. Auf Grund der Ergebnisse wird angenommen, daß in der Niere die mit Tetrachlorkohlenstoff gesetzte Schädigung sich im Succinat - oxydierenden System erst dann auswirkt, wenn die Zelle bereits morphologisch verändert ist. Dies steht im Gegensatz zu Befunden aus Untersuchungen anderer Autoren an der Leber, bei denen die Enzymläsion bereits vor morphologischen Veränderungen eintritt.

Abbildung 1: Die Fermentsktivität bei 0,2 mol Succinat-Lösung.

Abszisse: Zeit der Ablesung nach einem Temperatúrausgleich von 5 Min.

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10$ mg Niere Feuchtgewicht

Vorversuch: Unvergiftete Ratte; 0,2 mol Na-Succinat-Lösung;

Cytochrom c 1:3,75 verdünnt.

Die Kurve ist gleichzeitig ein Beispiel für die Berechnung aller übrigen Doppelversuche. Die angewandte Methode der Errechnung der Stundenwerte des Sauerstoffverbrauchs von 10 mg Niere ist im Text nachzulesen. Die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Doppelversuche wurden in große Sammelkurven der einzelnen Versuchsreihen eingetragen. Vergleiche die entsprechenden Abbildungen.

Abbildung 1

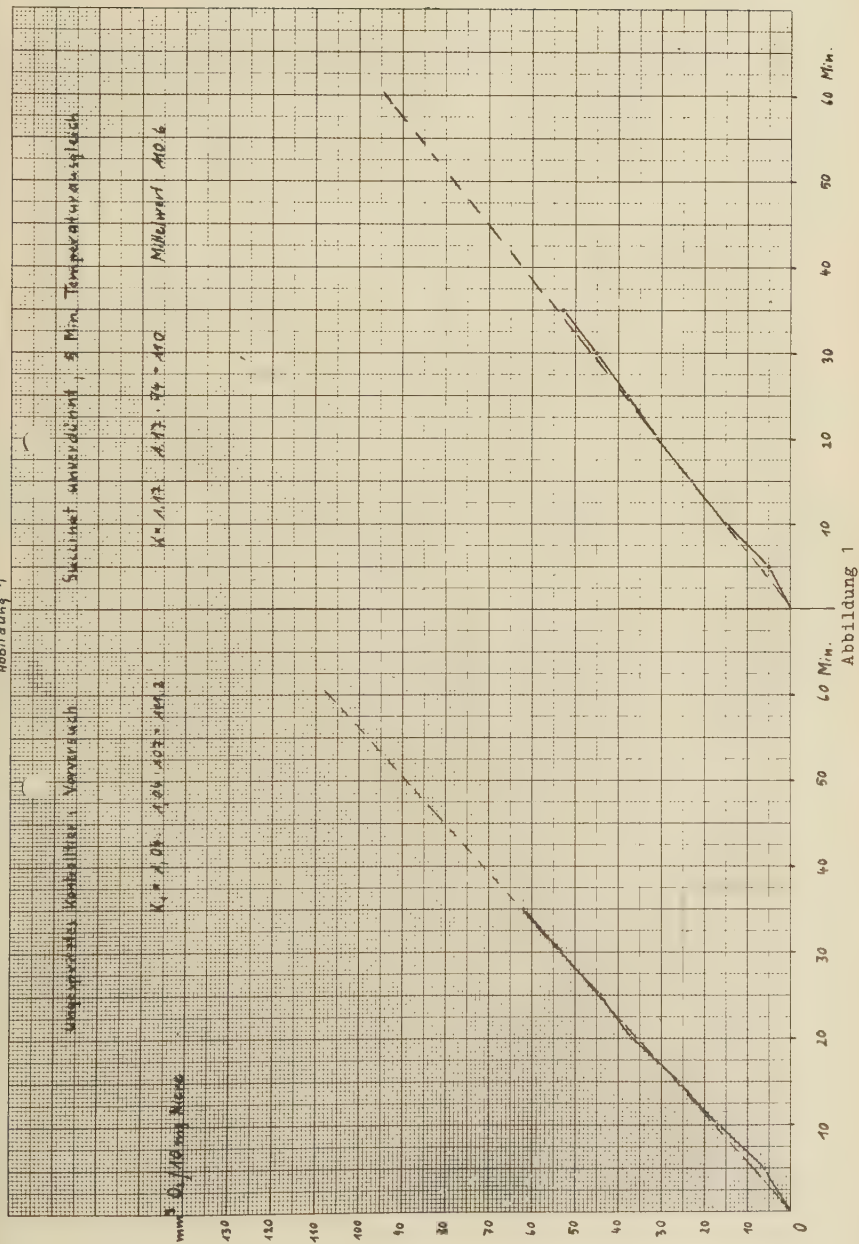


Abbildung 2: Abhängigkeit der Fermentaktivität von der Cytochromverdünnung.

Abszisse: Zeit der Ablesung nach einem Temperatúrausgleich von 10 Min.

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10$ mg Niere Feuchtgewicht

Vorversuch: Unvergiftete Ratte; 0,04 mol Na-Succinat-Lösung;

Das Reaktionsgefäß V_1 enthielt Cytochrom c unverdünnt,

das Reaktionsgefäß V_2 enthielt Cytochrom c 1:2 verdünnt,

das Reaktionsgefäß V_3 enthielt Cytochrom c 1:3,75 verdünnt.

Aus diesen Vorversuchen ergab sich gleichbleibend, daß die Werte für den Sauerstoffverbrauch bei Anwendung von Cytochrom c in einer Verdünnung von 1:2 am höchsten liegen.

Abbildung 2

unabhängiges Kontrollieren: Vorversuch

Geschwindigkeit verändert, 10 Min. Temperaturausgleich

V_2 : Cytochrom unversäuert

V_2 : Cytochrom 1:2

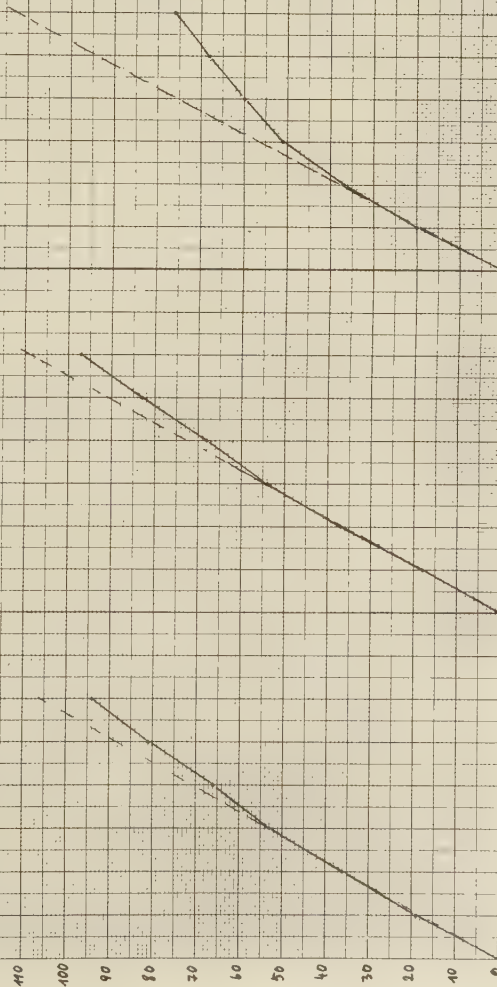
V_2 : Cytochrom 1:3.25

mm O_2 / 10 Min. Niere

$K_2 = 1.01$, $A. H_2$, $(106.3) = 235$

$K_2 = A. H_2$, $A. H_2$, $(100.23) = 246$

$K_2 = 0.96$, $A. H_2$, $(113.2) = 247$



30 Min.

20'

10'

Abbildung 2

20'

10'

30'

20'

10'

Abbildung 3: Mittelwerte aller Versuche der 1. Verlaufsserie bei Tieren
mit nicht standardisiertem Futter

Abszisse: Zeit der Gifteinwirkung in Stunden

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10 \text{ mg Niere/Stunde}$

x = Ratten mit $0,04 \text{ ml CCl}_4/100 \text{ g Körpergewicht}$ gespritzt

• = Kontrollratten mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung
gespritzt

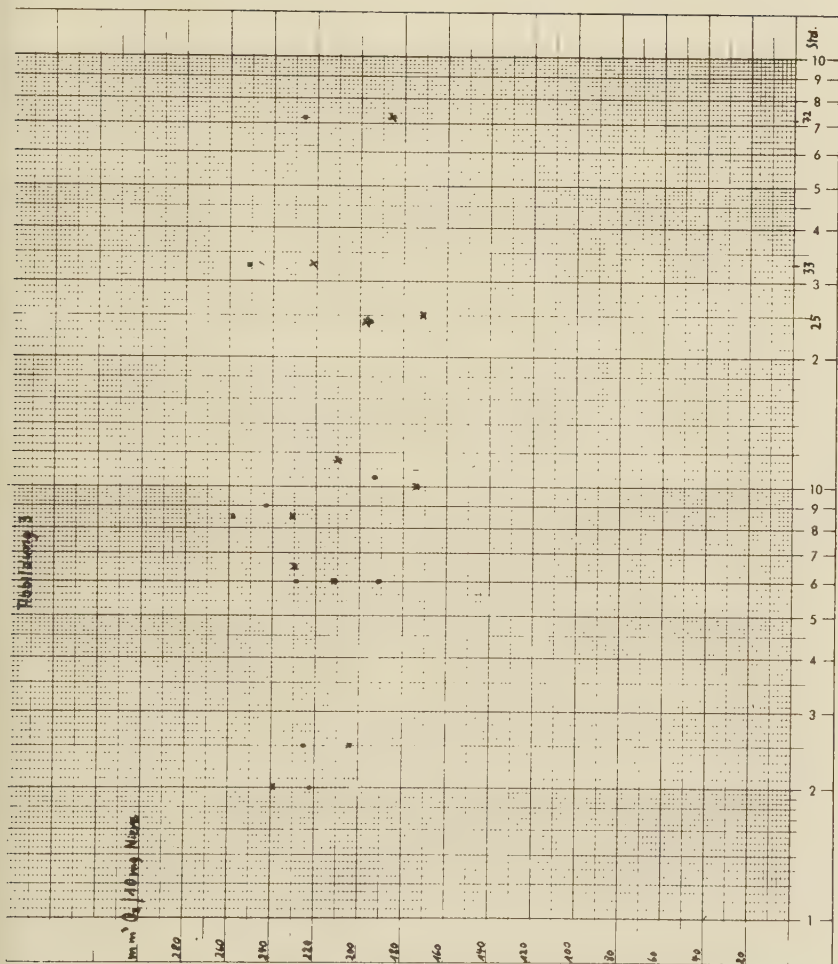


Abbildung 3

Abbildung 4: Mittelwerte aller Versuche der 1. Verlaufsserie bei Tieren
mit Trockenfutter

Abszisse: Zeit der Gifteinwirkung in Stunden

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10 \text{ mg Niere/Stunde}$

x = Ratten mit $0,04 \text{ ml CCl}_4/100 \text{ g Körpergewicht}$ gespritzt

. = Kontrollratten mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung gespritzt

Die Werte für den Sauerstoffverbrauch liegen im ganzen höher als bei den anders gefütterten Tieren. Aus beiden Kurven der 1. Verlaufsserie ist zu ersehen, daß eine Aktivitätsminderung im Succinat oxydierenden System bei dieser Dosierung des Giftes manometrisch in der Rattenniere nicht zu erfassen ist.

Abbildung 4

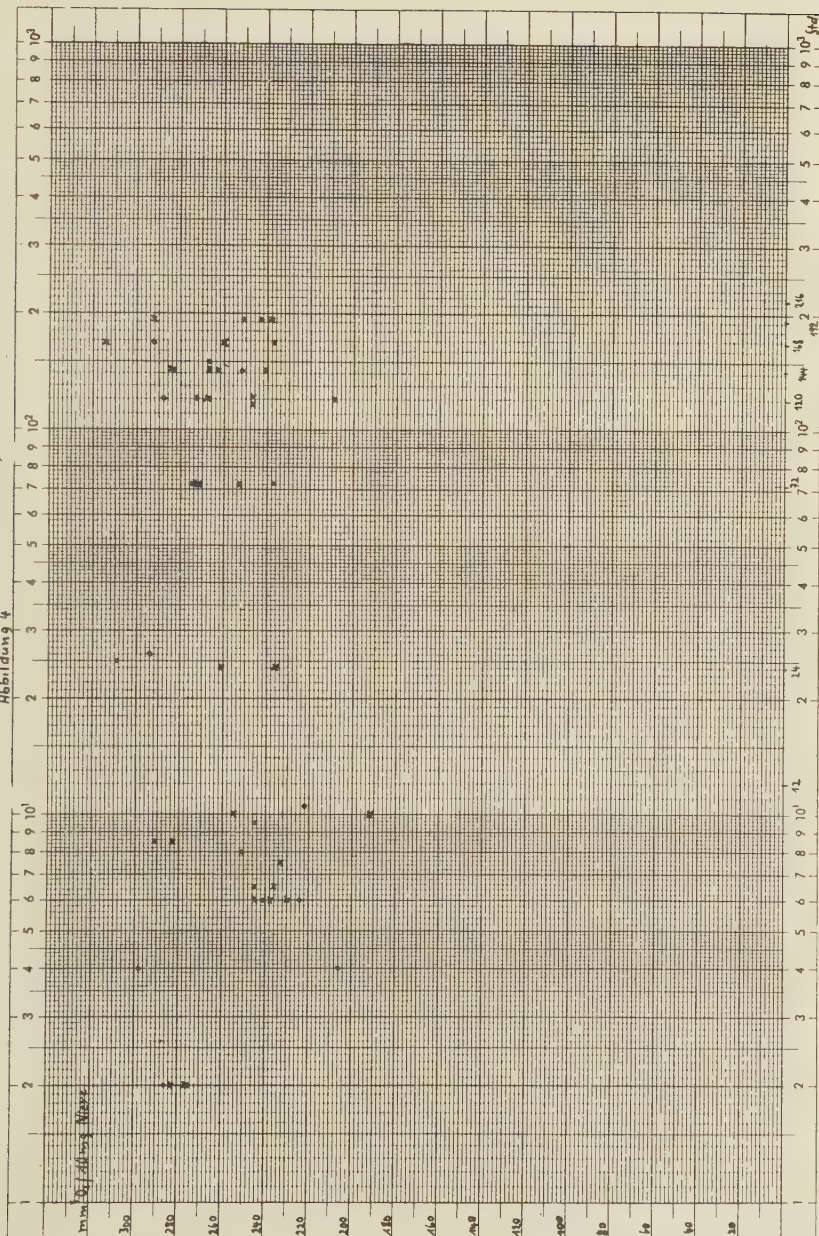


Abbildung 4

Abbildung 5:

Mittelwerte aller Versuche der 2. Verlaufs-
serie.

Abszisse: Zeit der Gifteinwirkung in Stunden

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10 \text{ mg}$
Niere/Stunde

x = Ratten mit $0,12 \text{ ml CCl}_4/100 \text{ g Körperge-}$
wicht gespritzt

. = Kontrollratten mit der gleichen Menge
physiologischer Kochsalzlösung gespritzt

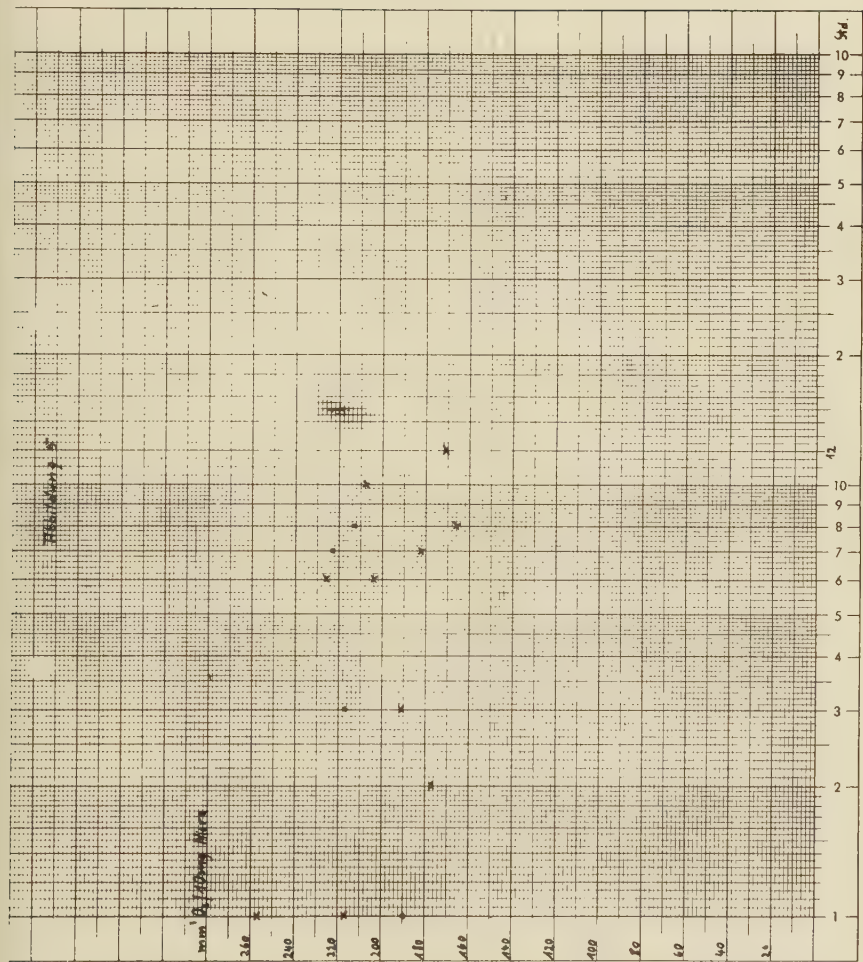


Abbildung 5

Abbildung 6:

Mittelwerte aller Versuche
der 3. Verlaufsserie.

Abszisse: Zeit der Giftein-
wirkung in Stunden

Ordinate: Sauerstoffverbrauch
in $\text{mm}^3/10 \text{ mg Niere}$
pro Stunde

x = Ratten mit 0,3 ml CCl_4
pro 100 g Körpergewicht
gespritzt

. = Kontrollratten mit der
gleichen Menge physiolo-
gischer Kochsalzlösung
gespritzt

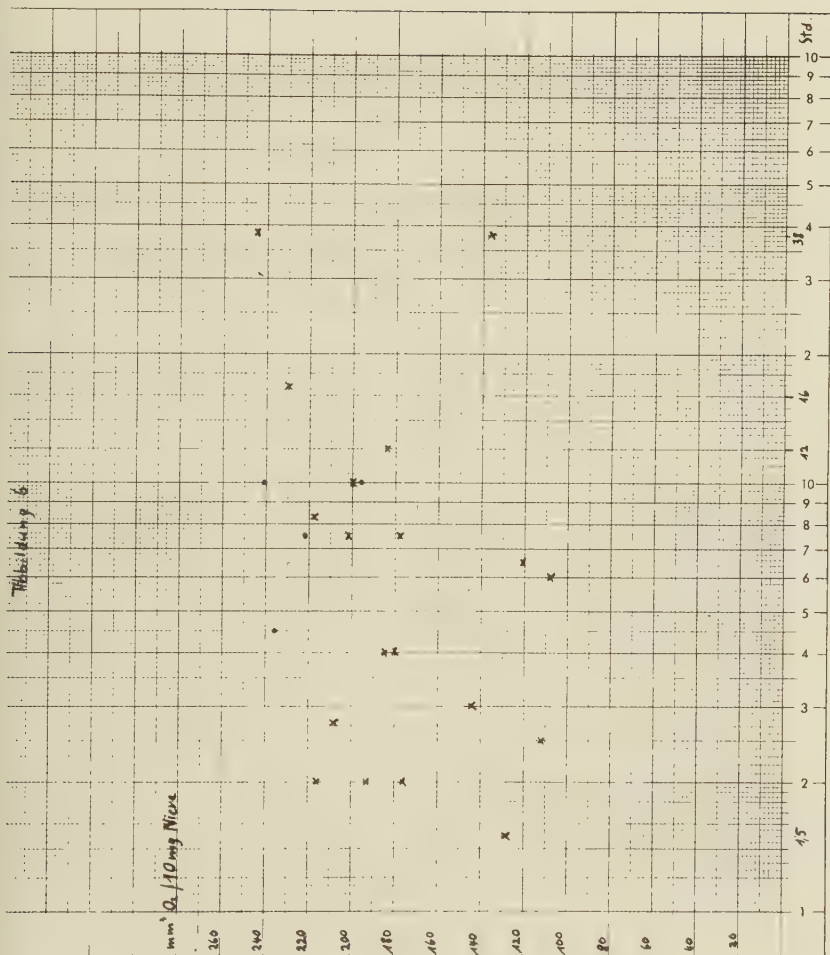


Abbildung 6

Abbildung 7: Mittelwerte aller Versuche der 4. Verlaufsserie.

Abszisse: Zeit der Gifteinwirkung in Stunden

Ordinate: Sauerstoffverbrauch in $\text{mm}^3/10 \text{ mg Niere/Stunde}$

x = Ratten mit 2,1 ml CCl_4 (1:10 in Olivenöl) pro 100 g Körpergewicht,
subcutan gespritzt

• = Kontrollratten mit der gleichen Menge reinen Olivenöls s.c. gespritzt

= Ratten mit 4,2 ml CCl_4 in Olivenöl/100 g Körpergewicht s.c. gespritzt

= Kontrollratten mit der gleichen Menge reinen Olivenöls s.c. gespritzt

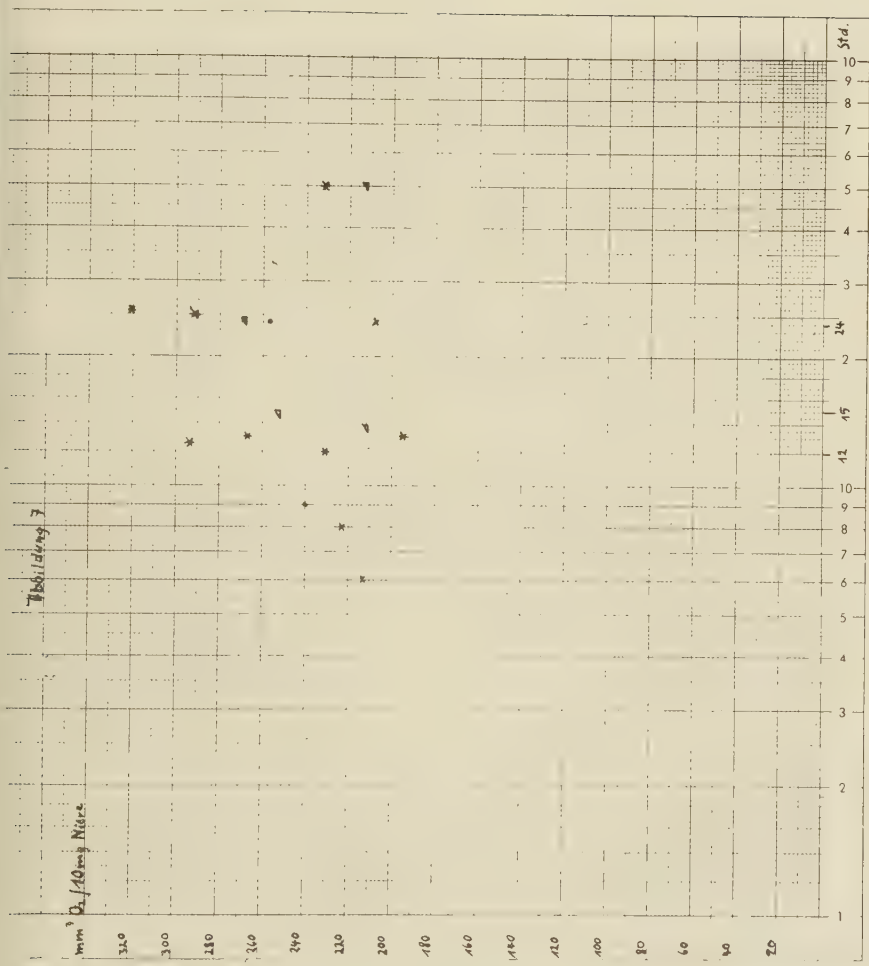


Abbildung 7

Abbildung 7



L i t e r a t u r .

1. ADAMS, E.M., SPENCER, H.C., ROWE, V.K., Mc COLLISTER, D.D.
and IRISH, D.D.
" Vapor Toxicity of Carbon Tetrachloride Determined by
Experiments on Laboratory Animals "
Arch. of Industr. Hyg. 6, 50-66 (1952)
2. BECKER, F.
" Vergleichende Untersuchung über die zur Schädigung
der Bernsteinsäure-Oxydation in der Leber nötigen Tetra-
chlorkohlenstoffmengen bei verschiedenen Nagetieren. "
Med. Diss. Universität München 1954
3. BECKER, V. und RIEKEN, E.
" Histologische und manometrische Untersuchungen über
die Zellatmung in der Niere "
Virch. Arch., Bd. 325, S. 1-14 (1954)
4. BÜCHNER, F.
Spezielle Pathologie
München - Berlin 1955
5. CHANDLER, A.C. and CHOPRA, R.N.
" The Toxicity of Carbon Tetrachloride to Cats :
A Warning "
Indian M. Gaz. 60, 406-407 (1925)
6. DENNIG, H.
Lehrbuch der inneren Medizin
Bd. 2, S. 839 und 942 (Stuttgart 1954)

7. DOERR, W. und BECKER, V.
" Das morphologische Äquivalentbild der Niere nach experimenteller Vergiftung mit Zyankali und Blausäure "
Verh. dtsh. Ges. Path. 35, 22 (1951)
8. ESCHENBRENNER, A.B. and MILLER, E.
Sex Differences in Kidney Morphology and Chloroform Necrosis
Science 102: 302-303 (1945)
9. GARDNER, G.H., GROVE, R.C., GUSTAFSON, R.K., MAURI, E.D., THOMPSON, M.J., WELLS, H.C. and LAMSON, P.D.
" Studies on the Pathological Histology of Experimental Carbon Tetrachloride Poisoning "
Bull. Johns Hopkins Hosp. 36, 107-133 (1925)
10. GYÖRGY, P., SEIFTER, J., TOMARELLI, R.M. and GOLDBLATT, H.
" Influence of Dietary Factors and Sex on the Toxicity of Carbon Tetrachloride in Rats "
J. Exper. Med. 83, 449-462 (1946)
11. HAMPERL, H.
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
12. JENNINGS, R.B. and KEARNS, W.M. jr.
" Necrotizing Nephrosis in the Rat Following Administration of Carbon Tetrachloride "
Arch. of Path. 56, 348-359 (1953)

13. MOESCHLIN, S.
Klinik und Therapie der Vergiftungen
Solothurn 1956
14. OLIVER, J., Mc DOWELL, M. and TRACY, A.
" The Pathogenesis of Acute Renal Failure Associated
with Traumatic and Toxic Injury: Renal Ischemia,
Nephrotoxic Damage and the Ischemic Episode "
J. Chin. Invest. 30: 1307 (1951)
15. OPIE, E.L.
" The Effect of Injury by toxic Agents upon Osmotic
Pressure Maintained by Cells of Liver and of Kidney "
J. Exper. Med. 91, 285-294 (1950)
16. PATWARDHAN, M.V., RAMALINGASWAMI, V., SRIRAMACHARI, S.,
and PATWARDHAN, V.M.
" Nutritional Factors in Toxic Liver Injury. Part I.
Biochemical and Histochemical Study of Liver Injury
Produced by Carbon Tetrachloride in Normal Rats "
Indian I. Med. Sci. 7, 533-544 (1953)
17. POTTER
" Manometric Techniques Tissue Metabolism "
18. RANDERATH, E. und LUTZ, P.
" Histologische Befunde der Niere von Salamandra
maculosa nach intraperitonealer Injektion fermenthem-
mender Substanzen "
Frankfurter Ztschr.f.Path., Bd. 67, S. 38-70 (1955)
19. SACHS, H.W. und DULSKAS, A.
" Die alkalische Phosphatase der Niere bei einigen
Vergiftungen "
Virch. Arch., Bd. 329, S. 466-485 (1956)

20. STAEMMLER, M.
Virch. Arch. 328, 1 (1956)
21. TRUETA, J., BARCLAY, A.E., FRANKLIN, K.J.,
DANIEL, P.M. and PRITCHARD, M.L.
" Studies of the Renal Circulation "
Springfield, III., Charles C Thomas, Publisher, 1947
22. TSUBOI, K.K. und STOWELL, R.E.
" Enzyme Alterations Associated with Mouse Liver
Degeneration and Regeneration after Single Carbon
Tetrachloride Feeding "
Cancer Research Bd. 11, Nr. 3 März 1951
23. WIDMANN, H.
" Akutes Nierenversagen und Tetrachlorkohlenstoff-
vergiftung "
Deutsche Med. Wochenschrift, Nr. 37, S. 1611, 1612,
1615-1618 (1958)
24. ZÖLLNER, N. und GROEBL, H.
" Die Aktivität der Bernsteinsäuredehydrase bei
experimenteller Leberschädigung "
Hoppe-Seyler's Ztschr.f.phys.Chem. 290. Bd. (1952)
25. ZÖLLNER, N. und RAISICH, E.
" Beobachtungen über den zeitlichen Ablauf der Le-
berschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff bei der Ratte "
Ztschr.f.d.ges.exper.Med., Bd.128, S. 140-147 (1956)
26. ZÖLLNER, N. und ROTHEMUND, E.
" Beobachtungen über die Messung der Aktivität der
Bernsteinsäuredehydrase "
Hoppe-Seyler's Ztschr.f.phys.Chem. 298. Bd. (1954)

27. BRUNS, Friedrich H. und NEUHAUS, Josef
" Die Aktivität einiger Serum- und Leberenzyme beim
experimentellen Tetrachlorkohlenstoffschaden der Maus."
Biochem. Ztschr. Bd. 326, Heft 4 (1955), S. 242-251
28. BRUNS, F. und NEUHAUS, J.
" Glycolytic Serums and Liver Enzyms Actives in
Experimental Liver Damage. "
From the Departement of Experimental Radiology, University
of Rochester School of Medicine and Dentistry, Rochester,
New York, and Institut für Physiologische Chemie der
Medizinischen Akademie, Düsseldorf, Germany.
29. SLATER, E.C.
" Structurally-bound Enzymes."
In: Biologie und Wirkung der Fermente.
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953

L e b e n s l a u f

Als Tochter des Generalmajors Carl Lohmeyer und seiner Ehefrau Eleonore Lohmeyer, geb. Schmidt, wurde ich am 23. November 1925 in Neustettin/Pommern geboren.

Nach 4 Jahren Volksschule in Stargard/Pommern und München, besuchte ich das Hermann Beezel Gymnasium in München, die Aufbauschule für Knaben in Pr.Eylau/Ostpr. und die Knaben-Oberschule in Bartenstein/Ostpr., wo ich im Februar 1944 absolvierte.

Nach kurzzeitigem studentischem Ausgleichsdienst in einem Kindergarten wurde ich im November 1944 zum DRK notdienst-verpflichtet. Meine Flucht führte mich im Mai 1945 nach Göttingen, wo ich zunächst als DRK-Helferin in der medizinischen Universitätsklinik arbeitete.

1946-1948 besuchte ich die Schule für Krankengymnastinnen an der Universität Göttingen, wo ich im März 1948 das Staatsexamen bestand. Als Krankengymnastin war ich in einer orthopädischen Fachpraxis in Stuttgart und im Bezirkskrankenhaus in Lahr in Baden beschäftigt bis ich mich im Mai 1951 in Lahr als Krankengymnastin niederließ.

Im Sommersemester 1953 begann ich das Studium der Medizin an der Universität in Göttingen, wo ich im Frühjahr 1956 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Nach 6 Semestern klinischen Studiums in Göttingen und München legte ich im Sommer 1959 mein Staatsexamen an der Ludwig-Maximilian-Universität München ab.

Für die Überlassung des Themas und die Erlaubnis, den experimentellen Teil dieser Arbeit an der Medizinischen Poliklinik durchzuführen, darf ich Herrn Professor Dr. W. Seitz meinen Dank aussprechen.

Herrn Dozent Dr. Dahme gilt mein bester Dank für die Anleitung und Beratung bei der Durchführung der histologischen Untersuchungen im Tierpathologischen Institut der Universität München. (Direktor: Professor Dr. H. Sedlmeier).

Für die wertvolle Unterstützung und Beratung während meiner Arbeit danke ich besonders Herrn Dr. E. König.

